

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-290699

(43) 公開日 平成10年(1998)11月4日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

C 1 2 P 7/64

C 1 2 P 7/64

C 0 7 C 69/602

C 0 7 C 69/602

C 1 1 C 3/10

C 1 1 C 3/10

審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平9-116281

(22) 出願日 平成9年(1997)4月18日

(71) 出願人 000004101

日本合成化学工業株式会社

大阪府大阪市北区大淀中一丁目1番88号

梅田スカイビル タワーイースト

(71) 出願人 582151753

島田 裕司

大阪府堺市堺区東4-2-31

(72) 発明者 島田 裕司

大阪府堺市堺区東4丁2番31号

(72) 発明者 宮永 嘉男

大阪府大阪市西淀川区歌島2丁目7番2号

(72) 発明者 杉原 耿雄

兵庫県伊丹市千僧6丁目87番地

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 γ-リノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸高度含有トリグリセリドを含む油脂の製造法

(57) 【要約】

【課題】 保存安定性に優れたγ-リノレン酸またはジホモγ-リノレン酸を高濃度に含有するトリグリセリドを、長期間連続的に得る製造法を提供する。

【解決手段】 γ-リノレン酸含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸含有トリグリセリドを含む油脂に、中鎖脂肪酸、及び30～500ppmの水の存在下で、トリグリセリドの1，3-位のエステル結合のみに作用するリパーゼを反応させる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 γ-リノレン酸含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸含有トリグリセリドを含む油脂に、中鎖脂肪酸、及び30～500ppmの水の存在下で、トリグリセリドの1，3-位のエステル結合のみに作用するリパーゼを反応させることを特徴とするγ-リノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸高度含有トリグリセリドを含む油脂の製造法。

【請求項2】 ビタミンEの存在下で反応させることを特徴とする請求項1記載のγ-リノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸高度含有トリグリセリドを含む油脂の製造法。

【請求項3】 リパーゼとして固定化リパーゼを用いることを特徴とする請求項1または2記載のγ-リノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸高度含有トリグリセリドを含む油脂の製造法。

【請求項4】 γ-リノレン酸含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸含有トリグリセリドを含む油脂が、植物、藻類又は菌類から抽出したものであることを特徴とする請求項1～3いずれか記載のγ-リノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸高度含有トリグリセリドを含む油脂の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、γ-リノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸高度含有トリグリセリドの製造法に関する。

【0002】

【従来の技術】 近年、高度不飽和脂肪酸含有トリグリセリドの有する生理活性が注目されている。特にγ-リノレン酸含有トリグリセリドやジホモγ-リノレン酸含有トリグリセリドは、アトピー性皮膚炎、慢性関節炎リウマチ、高血圧などの成人病に対する改善作用や制癌作用、免疫賦活作用など多くの生理活性作用を有していることが知られている。そして、γ-リノレン酸含有トリグリセリドやジホモγ-リノレン酸含有トリグリセリドの医薬品、特定保健用食品への利用法について様々な検討がなされている。

【0003】 従来より、高度不飽和脂肪酸の損失を少なくし、ジグリセリドを副生することなく高度不飽和脂肪酸を高濃度に含むトリグリセリドを製造する方法が要望されている。例えば、特開昭63-273485号公報では、多価不飽和脂肪酸含有油脂と飽和脂肪酸及び又は飽和脂肪酸トリグリセリドとを特定の割合で混合し、

交換反応を利用して、魚油とオレイン酸を原料とし、

1，3-位にオレイン酸を含有し、2-位にドコサヘキサエン酸を含有するトリグリセリドの製造方法が開示されている。更に、特開平8-214891号公報では、油脂、中鎖脂肪酸の存在下で、トリグリセリドの1，3-位のエステル結合のみに作用するリパーゼを作用させる油脂の製造方法が開示されている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、特開昭63-273485号公報記載の方法では、トリグリセリド中の特定の高度不飽和脂肪酸を高濃度に濃縮することはできないという問題があり、又、特開平6-287594号公報記載の方法では、エステル交換に用いるオレイン酸が魚油の構成脂肪酸の平均分子量に相当するため、トリグリセリド中のγ-リノレン酸含量を高めることはできず、また、生成油脂中のトリグリセリドの収率は原料トリグリセリドに対して約90モル%と高いものではなかった。また、特開平8-214891号公報記載の方法においては、酵素量に対する水分量（0～100%）に言及しているものの、実施例では反応系202.5g当たり2.5g（12，300ppm）という多量の水分が用いられており、本発明者らが水分量について検討した結果、該水分量をγ-リノレン酸含有トリグリセリドに適用しても、トリグリセリド中の高度不飽和脂肪酸の濃度が低く、未だ満足するものが得られないということが判明した。

【0005】

【課題を解決するための手段】 そこで、本発明者らは、上記事情に鑑みて鋭意研究を行った結果、γ-リノレン酸含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸含有トリグリセリドを含む油脂に、中鎖脂肪酸、及び30～500ppmの水の存在下で、トリグリセリドの1，3-位のエステル結合のみに作用するリパーゼを反応させることで、1，3-位に、γ-リノレン酸あるいはジホモγ-リノレン酸等の高度不飽和脂肪酸よりも分子量の小さい中鎖脂肪酸が導入され、2-位に存在しているγ-リノレン酸あるいはジホモγ-リノレン酸はそのまま保持されることにより、結果的にγ-リノレン酸、ジホモγ-リノレン酸の含量が大きくなったトリグリセリド（以下γ-リノレン酸高度含有トリグリセリド、ジホモγ-リノレン酸高度含有トリグリセリドと呼ぶ）を収率よく、長期間連続的に製造することに成功し、更に得られたトリグリセリドを含む油脂の保存安定性が良いことを見だし、本発明を完成するに至った。

【0006】 以下、本発明の詳細な説明をする。本発明は

で、例えば、菜種油、月見草油、黒ずくり油、ボラージ油等の植物の他、さらに、クロレラ、スピルリナ等の藻類、モルティエラ属の菌類から抽出した油脂等を挙げることができる。

【0007】本発明の中鎖脂肪酸としては、炭素数6～12個を有する脂肪酸から選ばれるものであり、例えば、カブロン酸、カプリル酸、カプリン酸、ラウリル酸等が挙げられるが、好ましくはカプリル酸、カプリン酸が用いられる。

【0008】本発明で用いられるリパーゼとしては、例えば、リゾプス (*Rhizopus*) 属、リゾムコール (*Rhizomucor*) 属、アスペルギルス (*Aspergillus*) 属などの微生物が生産するもの、ブタ膵臓リパーゼなどが挙げられる。かかるリパーゼについては、市販のものを用いることができる。例えば、リゾプス・デレマー (*Rhizopus delemar*) のリパーゼ (田辺製薬 (株) 製、「タリパーゼ」)、リゾムコール・ミイヘイ (*Rhizomucor miehei*) のリパーゼ (ノボ・ノルディスク (株) 性製、「リボザイムIM」)、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) のリパーゼ (天野製薬 (株)、「リパーゼA」) 等が挙げられる。

【0009】また本発明においては、かかるリパーゼとして固定化リパーゼを用いると、水分量を0にすることができるので、後述する反応系の水分量の調整の点で有効である。

【0010】固定化する担体としては、セライト、イオン交換樹脂、セラミック等が挙げられるが、好ましくは、セラミックが用いられ、セラミックの種類としてはセラミック担体SM-10 (日本ガイシ (株) 製) が好ましいが、これに限定されるものではない。固定化リパーゼを用いる場合、リパーゼ量は担体1g当たり100～2,000,000ユニット、好ましくは1,000～300,000ユニットである。

【0011】リパーゼの固定化方法としては、特に限定されないが、例えば、上記のユニット数のリパーゼを含む0.1～30重量%、好ましくは1.0～20重量%の蛋白質 (リパーゼ) 水溶液1～100ml、好ましくは10～30mlに1～10gのセラミック担体を懸濁させ、緩く攪拌しながら、-20～-80℃に冷却した10～300mlのアセトン、エタノールあるいはイソプロパノールを徐々に加え、リパーゼを固定化担体に吸着させる。沈殿した固分を回収し、減圧条件下で十分乾燥させる。

酵素の1～10倍量の、油脂/中鎖脂肪酸/水〔30～40:60～70:5～10 (重量比)〕混合液を通過し、通過液を再度カラムに添加する。この操作を合計で1～10サイクル行う。この際の流速は、圧損がなければいくらでもよい。

【0013】本発明の製造法では、リパーゼで原料トリグリセリド中の1,3-位の高度不飽和脂肪酸を中鎖脂肪酸にエステル交換するのであるが、反応系中の原料トリグリセリドを含有する油脂の量としては10～50重量%、好ましくは15～50重量%である。反応系中の中鎖脂肪酸の量としては50～90重量%、好ましくは50～85重量%であり、反応系中の原料トリグリセリド/中鎖脂肪酸の重量比は1～10が好ましく、更には1～5である。

【0014】リパーゼの反応系中の添加量は反応液1gに対して4～80,000ユニットが好ましく、更には40～8,000ユニットである。ここでの1ユニットとは、オリーブ油を基質とし、1分間に1μモルの脂肪酸を生成するのに必要なリパーゼ量を示す。

【0015】本発明では、かかる反応の際に、30～500ppmの水の存在下で反応させることを最大の特徴とするもので、好ましくは50～150ppmである。水が30ppm未満ではエステル交換が進行しにくくなり、また、500ppmを超えると、酵素の安定性が悪くなり、トリグリセリドの加水分解が起こるので好ましくない。水は、リパーゼ、中鎖脂肪酸、原料トリグリセリドを含む油脂中に含まれるものでもよいが合計の水の量が、30～500ppmになる様にコントロールすることが必要であり、該コントロールの方法としては、①あらかじめ、各成分の水分量をカールフィッシャー法により測定しておき、合計の水分量をコントロールする方法、②反応成分を完全に脱水して、後で所定量の水を加える方法等があるが、①の方法が、粉末のリパーゼ等吸湿性のあるものの取り扱いが簡略なので好ましい。なお固定化リパーゼが保持している水分量は、本発明の水分量には含めないものとする。

【0016】また、反応方法としては、バッチ法、カラム法いずれも適用可能であるが、連続的に大量に反応が可能、固液分離が容易であるのでカラム法が好ましい。

【0017】以下固定化リパーゼを使用した、カラム法について説明するがこれに限定されるものではない。まず、固定化酵素をカラムに充填し、固定化酵素の1～10倍量の油脂/中鎖脂肪酸/水〔30～40:60～70:5～10 (重量比)〕混合液で上記の固定化リパーゼの充填したカラムに流し入れ、合計4～10分間、適

～1000ml/hr、好ましくは1～10ml/hr、空間速度0.01～10/hr、好ましくは0.1～1/hrでカラムに通過させる。反応温度10～60℃、好ましくは15～45℃である。

【0018】得られた通過液にアルカリを加えて、エステル交換させて生じた、遊離脂肪酸と交換されなかった過剰の中鎖脂肪酸を中和させて脂肪酸塩とした後、水を加えて、該脂肪酸塩を水層に抽出して、有機溶剤を加えて、トリグリセリド（油層）を回収する。水層は反応系にリサイクルして用いることも可能である。

【0019】上記エステル合成反応により、トリグリセリドは原料トリグリセリドに対して、93～97モル%回収することができ、またトリグリセリド中のγ-リノレン酸を28～35重量%にジホモγ-リノレン酸を25～36重量%とすることができる。

【0020】また、本発明では、上記のリパーゼの反応において、ビタミンEを共存させることも好ましく、製造したトリグリセリドを含有する油脂の保存安定性、取扱性等の向上に寄与する。該ビタミンEとしては、α-トコフェロール、β-トコフェロール、γ-トコフェロール、δ-トコフェロール等のいずれかあるいは混合物が用いられ、好ましくは小麦胚芽油等が挙げられる。

【0021】本発明で製造したトリグリセリドは、2位に多く含有するγ-リノレン酸あるいはジホモγ-リノレン酸を全く遊離しないため、γ-リノレン酸あるいはジホモγ-リノレン酸を高度に含有し、また本発明の製造法では、上記のカラム法によるエステル交換反応を連続的に行った場合、原料トリグリセリドに対して95モル%以上の回収率で、トリグリセリドを得る反応を30～200日程度連続運転することができる。更に得られたトリグリセリドを含む油脂を、室温で長期間放置しても酸価の上昇が少なく、保存安定性がよい。

【0022】

【実施例】以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明は、これら実施例に限定されない。なお「%」とあるのは脂肪酸組成をガスクロで分析したピーク面積%を示す。

実施例1

セラミック担体SM-10（日本ガイシ（株）製）にリゾプス・デルマー（*Rhizopus delmar*）のリパーゼ（田辺製薬社製、「タリパーゼ」5、000ユニット/担体g）8gを固定化した後、円筒形のカラム（直径1.5cm、長さ6.2cm、容量10.95cm³）に詰め、カラムの上端から、ポラージ油（トリグリセリド中のγ-リノレン酸29.0%）を

度4ml/hr、空間速度0.589/hrで仕込みながら30℃でエステル交換連続反応を行った。得られた反応液は、反応開始1日後と90日後に通過液3g分取し、1N-水酸化ナトリウム水溶液を加えて中和し放置後、水層（下層）を除去して、トリグリセリド層（上層）をヘキサン抽出し、該ヘキサンを除去してグリセリド画分を得た。該グリセリド画分を、ODSカラム（AM120-S-50、YMC社製）で分析し、トリグリセリド画分は0.79gと算出された。得られたトリグリセリド画分を、常法によりメチルエステル化して、トリグリセリド中の脂肪酸組成をキャピラリークロマトグラフィーで分析し、γ-リノレン酸は29.4%となった（原料トリグリセリド（γ-リノレン酸22.2%）1gからトリグリセリド0.79g（γ-リノレン酸29.4%）が得られたので、トリグリセリドの回収率は96モル%であった）。又、該油脂1gを密封試験管に入れ、室温で1カ月保存試験を行い、保存前、保存後の酸価を基準油脂分析試験法により測定し、酸価の上昇を測定し以下の様に評価した。

◎・・・1mg KOH/油脂g未満

○・・・1～5mg KOH/油脂g未満

△・・・5～10mg KOH/油脂g未満

×・・・10mg KOH/油脂g以上

反応開始1日後の結果は表1に、90日後の結果は表2に示す。

【0023】実施例2

実施例1において、小麦胚芽油（エーザイ社製、「イーミックス」）を含まないポラージ油を用いた以外は同様に反応して、同様に分析しγ-リノレン酸を29.0%含有トリグリセリドを、原料ポラージ油に対して、回収率94モル%で得た。保存試験も同様にを行った。結果を表1、2に示す。

【0024】実施例3

実施例1において、カプリル酸の替わりにカプリン酸（水分量200ppm）を同重量用いて、同様に実施し、同様に評価した。結果を表1、2に示す。

【0025】実施例4

実施例1において、ポラージ油の替わりに、モルティエラ腐抽出油（ジホモγ-リノレン酸16%含有）を用いて、実施例1と同様に反応させ、実施例1と同様に評価し、結果を表1、2に示した。

【0026】実施例5

実施例2において、ポラージ油の替わりに、モルティエラ腐抽出油（ジホモγ-リノレン酸16%含有）を用いて、実施例1と同様に反応させ、実施例1と同様に評価

し、結果を表1、2に示した。

【0028】比較例1

実施例1において、ボラージ油の水分量を10ppmに、カプリル酸の水分量を10ppmのものを用いて、実施例1と同様に反応させ、実施例1と同様に評価し、結果を表1、2に示した。

【0029】比較例2

＊

	トリグリセリド				保存試験	
	GLA(%)		DGLA(%)		トリグリセリド 回収率(%)	
	原料	反応後	原料	反応後		
実施例1	22.2	29.4	—	—	96	◎
実施例2	22.2	29.0	—	—	94	○
実施例3	22.2	29.0	—	—	96	◎
実施例4	—	—	16.0	25.3	95	◎
実施例5	—	—	16.0	25.0	95	◎
実施例6	—	—	16.0	25.0	95	◎
比較例1	22.0	28.5	—	—	98	○
比較例2	22.0	28.0	—	—	90	○

【0031】

※ ※【表2】

	トリグリセリド				保存試験	
	GLA(%)		DGLA(%)		トリグリセリド 回収率(%)	
	原料	反応後	原料	反応後		
実施例1	22.2	29.2	—	—	95	◎
実施例2	22.2	29.0	—	—	94	○
実施例3	22.2	29.0	—	—	96	◎
実施例4	—	—	16.0	25.3	95	◎
実施例5	—	—	16.0	25.0	95	◎
実施例6	—	—	16.0	25.0	95	◎
比較例1	22.0	22.2	—	—	100	◎
比較例2	22.0	23.0	—	—	75	○

【0032】

【発明の効果】本発明では、γ-リノレン酸含有トリグリセリド及び／またはジホモγ-リノレン酸含有トリグリセリドを含む油脂に、中鎖脂肪酸、及び30～500ppmの水の存在下で、トリグリセリドの1、3-位の★

★エステル結合のみに作用するリパーゼを反応させることで、収率よく、該トリグリセリドが得られ、また固定化リパーゼを用いてカラムで長期間連続的に反応させることが可能となり、更に得られたトリグリセリドを含む油脂の保存安定性が良い。

フロントページの続き

(72)発明者 藤田 裕之
大阪府茨木市室山2丁目1番1号 日本合成化学工業株式会社中央研究所内

(72)発明者 福岡 信浩
大阪府茨木市室山2丁目1番1号 日本合成化学工業株式会社中央研究所内

(72)発明者 山上 知秀
大阪市北区野崎町9番6号 日本合成化学工業株式会社内